ПАРАЗИТОЛОГИЯ, IX, 3, 1975

УДК 576.893.19

PLEISTOPHORA CARPOCAPSAE SP. N. (MICROSPORIDIA, NOSEMATIDAE) — ПАРАЗИТ ЯБЛОННОЙ ПЛОДОЖОРКИ

П. А. Симчук и И. В. Исси

Всесоюзный институт биологических методов защиты растений, Кишинев
и Всесоюзный институт защиты растений, Ленинград

Дано описание нового вида микроспоридий *Pleistophora carpocapsae* sp. n., паразитирующей на гусеницах, куколках и бабочках яблонной плодожорки в окрестностях Кишинева (Молдавия).

Яблонная плодожорка (*Carpocapsa pomonella* L.) — один из опаснейших вредителей плодовых культур известна как хозяин паразитических простейших, относящихся к отряду *Microsporidia*. В 1938 г. Пейо (Paillot, 1938) обнаружил во Франции микроспоридию, описанную им как *Nosema carpocapsae*. Обычно паразит развивается в прядильных железах гусениц, но при тяжелой форме заболевания микроспоридия поражает все ткани и органы насекомого. В некоторых популяциях заражение плодожорок нозематозом может доходить до 40—60% (Lipa, 1963; Weiser, 1966). Микроспоридия имеет широкое географическое распространение и известна как в Европе (Paillot, 1938; Lipa, 1963; Weiser, 1961, 1966), так и на американском континенте (Lipa and Steinhaus, 1962). В СССР *N. carpocapsae* была найдена на Кавказе (Куба Азербайджанской ССР и Сочи Краснодарского края) и в Крыму (под Ялтой). В литературе имеются сведения и о другой микроспоридии яблонной плодожорки (Lipa and Steinhaus, 1962). Она также обнаружена во Франции (материал на определение представил H. L. Parker) и отнесена авторами к роду *Pleistophora*. Однако, кроме констатации родовой принадлежности и указания размеров спор, Липа и Штейнхауз не приводят других данных. Естественно, что отсутствие описания видовых признаков и биологии данной микроспоридии исключает возможность ее сравнения с новыми видами.

В настоящей статье приведено описание выделенной из яблонной плодожорки новой микроспоридии, принадлежащей к роду *Pleistophora*.

МЕТОДИКА

Гусениц яблонной плодожорки собирали в промышленных садах и заброшенных посадках яблони, расположенных в окрестностях Кишинева. Для выявления микроспоридий из живых и мертвых насекомых приготовляли водяные препараты, которые просматривали при фазово-контрастной микроскопии. Помимо сбора инфицированного материала из природных популяций насекомых, в целях изучения цикла развития паразита проводили экспериментальное заражение гусениц старших возрастов путем нанесения на мандибулы с помощью микроинъектора суспензии, содержащей более 2×10^7 спор в 1 мл. Зараженных насекомых помещали в бумажные стаканчики и содержали в термостате при 25°. Затем ежедневно отбирали по 3—5 гусениц, которых анатомировали и просматривали под микроскопом

МБС-2 при увеличении 20× для выявления патологических изменений в органах и тканях насекомого.

Стадии развития микроспоридии изучали на мазках, приготовленных из различных органов и тканей зараженных гусениц. После фиксации метиловым спиртом мазки окрашивались по методу Романовского-Гимза. Локализация паразита в организме хозяина определялась на гистологических срезах. Для этого гусениц, заражение которых было установлено по наличию спор паразита в слюне, фиксировали в растворе Буэна, заключали в парафин и приготовляли срезы толщиной 5—7 мк. Гистологические срезы также окрашивались по методу Романовского-Гимза. Мазки и срезы изучались на микроскопе МББ-1А при увеличениях: 40×, 90×; ок. 10×; насадка 1.1 и 1.6.

Для выбрасывания полярной нити применялись различные методы, однако наиболее легко экструзия нити происходила при подсушивании спор на предметном стекле с последующим увлажнением дистиллированной водой (Kramer, 1960).

Измерения осуществлялись с помощью окулярного микрометра МОВ-15. Средние размеры спор и стандартные ошибки устанавливали при 100 измерениях. При изучении специфичности паразита его спорами экспериментально заражали следующие виды насекомых: грушевую плодожорку — *Carpocapsa pyrivora* Dan., златогузку — *Euproctis chzysorrhoea* L., кольчатого шелкопряда — *Malacosoma neustria* L., непарного шелкопряда — — *Lymantria dispar L.*, боярышницу — *Aporia crataegi* L.,американскую белую бабочку — *Hyphantria cunea* Drury, капустную совку — *Barathra brassicae* L. Для заражения в лабораторных условиях использовали гусениц младших и средних возрастов. Концентрированную суспензию спор (2×10^6—2×10^7 спор/мл) наносили на листья и плоды кормового растения. Свежепогибших насекомых микроскопировали для выявления возбудителя заболевания. Проведенные исследования показали, что мы имеем дело с новым видом.

Pleistophora carpocapsae sp. n.

Хозяин: гусеницы, куколки и бабочки яблонной плодожорки *Carpocapsa pomonella L.* Локализация: поражает все ткани и органы насекомого. Место и время обнаружения: окрестности Кишинева (Молдавия), декабрь 1972 г. Повторно обнаружена в тех же популяциях плодожорки в 1973 г. Заражение популяций микроспоридиозом не превышает 1.3%.

Различные стадии развития *P. carpocapsae* показаны на рис. 1—26. Развитие микроспоридии начинается с выхода планонта (спороплазмы) из споры. Первые планонты обнаруживаются в мазках, приготовленных из кишечника через двое суток после спаивания гусеницам спор. Ранее паразита в мазках обнаружить не удалось. Начальные стадии развития (рис.*1*) — небольшие округлые клетки (0.77—1.60 мк), имеющие компактное окрашенное в розовый цвет ядро, часто смещенное к периферии, и равномерно окрашенную в синий цвет цитоплазму. Планонты, проникнув в эпителиальные клетки кишечника, дают начало первой шизогонии, в результате которой происходит образование многоядерных форм (рис. 2—7). Количество ядер у таких шизонтов варьирует от 1 до 8, их размеры составляют 1.09—6.20 мк. Шизонты характеризуются овальной формой и неравномерно окрашенной цитоплазмой, тогда как размеры и окраска их ядер не отличаются от таковых планонта.

При определенных размерах и числе ядер шизонты распадаются на небольшие тельца (0.77—1.41 мк) — меронты (рис. 8). Цитоплазма меронтов интенсивно окрашена в синий цвет, более яркий на периферии. Ядро компактное, розовое, расположенное в центре клетки или на границе цитоплазмы и вакуоли. Меронты определяют начало второй шизогонии, которые (рис. 9—17) характеризуются крупными диффузными угловатыми или кольцевидными ядрами, окрашенными в слаборозовый цвет, и менее интенсивно окрашенной цитоплазмой, часто образующей светлую зону вокруг ядер. Шизонты имеют округлую форму, в зависимости от количества ядер (1—12) их размеры колеблются от 1.30 до 9.00 мк. При формировании многоядерных шизонтов часть ядер перестает делиться и образуются ши-

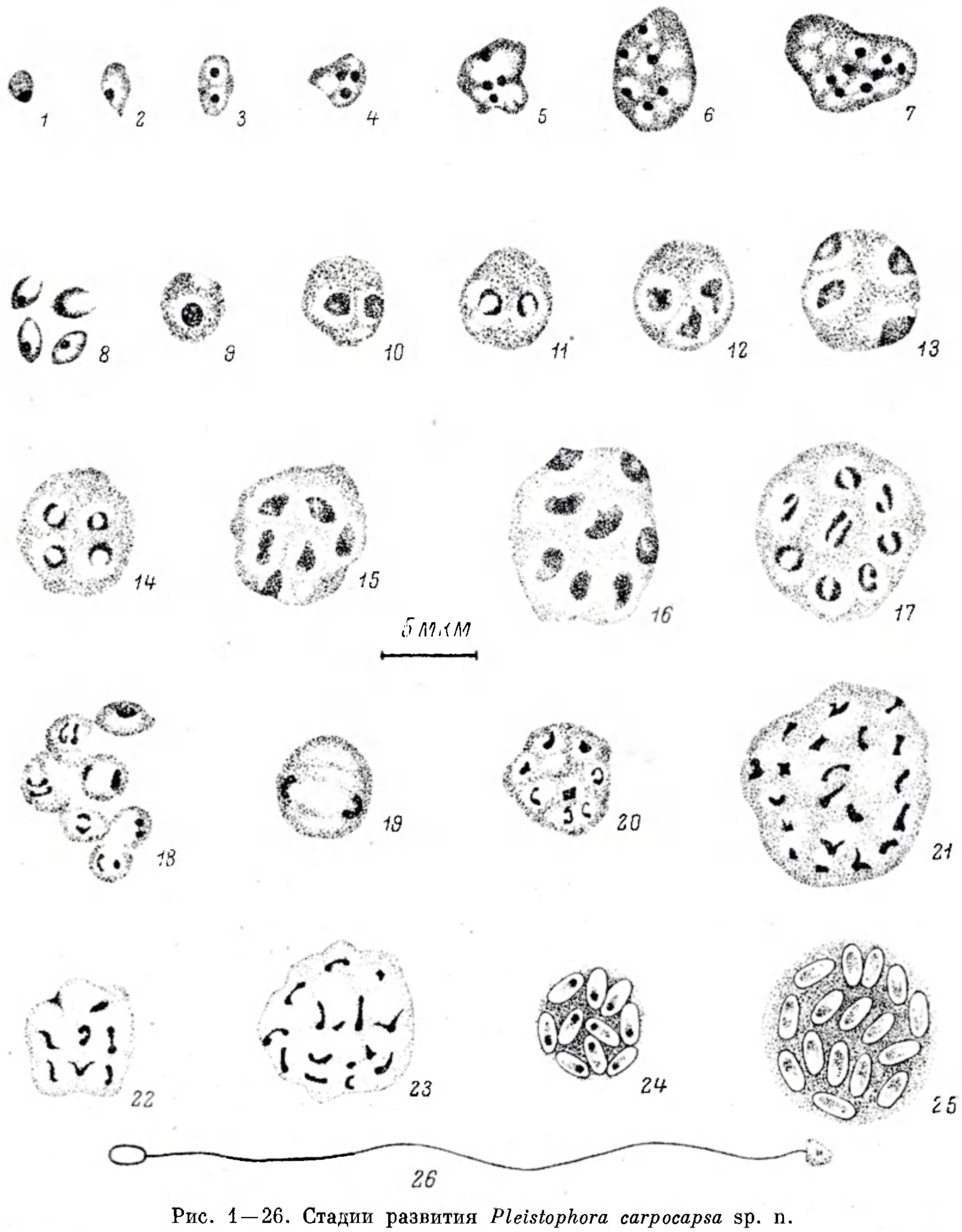

Рис. 1—26. Стадии развития *Pleistophora carpocapsa* sp. n.

1 — планонт (спороплазма); *2—7* — первая шизогония; *8* — меронты; *9—17* — вторая шизогония; *18* — формирование пре-споронтов и споронтов; *19—23* — плазмодии на стадии формирования споробластов; *24* — молодые споры; *25* — зрелые споры; *26* — спора с выброшенной полярной нитью.

зонты с нечетным числом ядер (3, 5, 7 и т. д.). Стадии, характерные для второй шизогонии, начинают появляться в мазках, приготовленных через двое суток после заражения. В течение последующего времени количество их значительно возрастает.

С увеличением (вследствие размножения) количества паразитов в кишечнике наблюдается постепенное заражение других органов и тканей насекомого: гемоцитов, прядильных желез, жирового тела, мальпигиевых сосудов. Появление шизонтов в препаратах, приготовленных из этих органов и тканей, отмечено на 4—5-й день после заражения гусениц.

У *P. carpocapsae* аутогамия происходит в конце второй шизогонии. Формирования стадий, переходных к спорогонии, начинается с деления многоядерных шизонтов. Одновременно может происходить попарное слияние ядер, в конце которого образуются споронты. Однако может быть и так, что аутогамия задерживается, и тогда шизонты распадаются на двуядерные тельца, называемые Каннинг пре-споронтами (Canning, 1960). Размеры споронтов и пре-споронтов (рис. 18) составляют 1.50—3 мк в диаметре. Цитоплазма этих образований окрашена так же, как у шизонтов. Ядра вытянутые или округлые, окрашенные в розовый цвет.

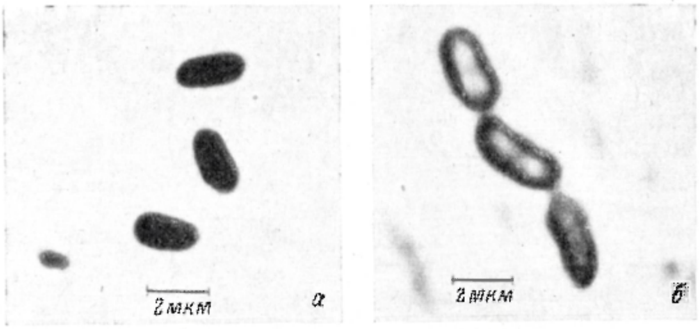

Рис. 27. Споры микроспоридий.

а — *P. carpocapsae*; б — *P. schubergi* (фазовый контраст, об. 90×, ок. 20×).

При дальнейшем развитии микроспоридии ядро споронта многократно делится, в результате чего формируются многоядерные спорогониальные плазмодии (рис. 19—21). Количество ядер варьирует от 4 до 64, однако наиболее часто встречаются 8—32-ядерные плазмодии. Формирующиеся споробласты (рис. 22, 23) характеризуются почти не окрашиваемой вокруг ядер цитоплазмой. Ядра на этой стадии развития интенсивно делятся и имеют часто угловатую, гантелевидную, удлиненную или v-образную форму. Они окрашены в более интенсивный розовый цвет, чем у шизонтов второй шизогонии. Размеры плазмодиев колеблются в пределах 3.0—11.0 мк. Затем у споробластов формируется оболочка, и они превращаются в споры. У молодых спор видно смещенное к одному из полюсов розовое ядро (рис. 24). Размеры панспоробластов в водных препаратах составляют 2.5—7.0 мк. После созревания спор они распадаются.

Споры *P. carpocapsae* коротковальные (рис. 25). Длина живых спор колеблется от 1.61 до 3.07 мк, ширина — от 0.74 до 1.39 мк. Средние размеры составляют 2.25±0.03 × 1.05±0.01 мк (п=100). При фиксировании и окраске по Романовскому-Гимза слабо окрашивается только средняя часть споры, где находится спороплазма. Размеры спор варьируют: в длину от 1.56 до 3.14 мк и в ширину от 0.77 до 1.66 мк. Средние значения составляют 2.27±0.03×1.24±0.01 мк (п=100). Длина полярной нити находится в пределах 25—54 мк.

Конечные стадии развития микроспоридии (панспоробласты и зрелые споры) обнаруживаются в мазках из кишечника и прядильных желез на 6-й день после заражения, а в мазках из жирового тела — на 7-й день. Таким образом, полный цикл развития *P. carpocapsae* при температуре 25° завершается в течение шести дней. Однако в течение этого периода паразит не способен вызвать гибель гусениц яблонной плодожорки последнего возраста. Отмечено, что отмирание насекомых (гусениц, предкуколок и особенно куколок) начинается на 11—12-й день после заражения и в течение последующих 13—15 дней погибает основная масса подопытных насекомых.

По гистологическим препаратам, приготовленным из сильно зараженных, но еще живых гусениц, было установлено, что помимо кишечника, гемоцитов, прядильных желез, мальпигиевых сосудов и жирового тела микроспоридия поражает клетки гиподермы и трахейного матрикса, мышечную и нервную ткани, гонады, т. е. происходит генерализованное заражение организма насекомого.

В экспериментальных условиях *P. carpocapsae* вызывает заболевание также у гусениц грушевой плодожорки, златогузки и кольчатого шелкопряда. Не заражались непарный шелкопряд, боярышница, американская белая бабочка и капустная совка. *P. carpocapsae* по способности заражать другие виды насекомых близка к *Pleistophora schubergi* Zwölfer, каждый из подвидов которой развивается в определенном круге хозяев, причем общим хозяином для всех является златогузка (Исси, 1971). Однако все подвиды *P. schubergi* развиваются исключительно в кишечнике своих хозяев и только на стадии личинки, тогда как *P. carpocapsae* вызывает общее заражение организма как основного хозяина — яблонной плодожорки, так и других насекомых, инфицированных экспериментально. Для более полной дифференциации этих видов микроспоридией *P. schubergi*, выделенной из непарного шелкопряда, в лабораторных условиях были заражены гусеницы яблонной плодожорки. Сравнение двух видов выявило у них кроме уже названных биологических хорошо выраженные морфологические отличия. *P. schubergi* и *P. carpocapsae* различаются по форме и размерам живых спор (рис. 27). При изучении жизненных циклов обнаружены различия в морфологии стадий второй шизогонии: для первой микроспоридии характерны лентовидные шизонты, для второй только округлые. Как уже отмечалось выше, отличаются они также по типу заражения своих хозяев (*P. schubergi* характеризуется узкой гистотропией и поражает только одну фазу развития хозяина, *P. carpocapsae* вызывает генерализованную инвазию и поражает почти все фазы развития насекомого) и по кругу заражаемых хозяев. Это дает нам право рассматривать описываемый вид как новый. Видовое название дано по роду хозяина. Типовые препараты находятся во ВНИИ БМЗР и ВИЗР.

Литература

Исси И. В. 1971. О полиморфизме вида Pleistophora schubergi Zwölfer, 1927 и возможном пути видообразования у микроспоридий. Паразитол., 5 (4) : 297—301.

Canning E. U. 1960. Two new microsporidian parasites of the winter moth, Operophtera brumata (L.). J. Parasitol., 46 (6) : 755—763.

Kramer J. P. 1960. Observation on the emergense of the microsporidian sporoblasm. J. Insect Pathol., 2 (4) : 433—439.

Lipa J. J. 1963. Studia inwazjologiczne i epizootiologiczne nad kilkoma gatunkami pierwotniakow z rzedu Microsporidia pasozytujacumi w owadach. Prace naukowe instytuti ochroni roslin, 5 (1): 116—122.

Lipa J. J. and Steinhaus E. A. 1962. Further report on identifications of Protozoa patogenic for insects. Acta Protozool. Polonica, 11 : 165—175.

Paillot A. 1938. Le cycle evolutif de Nosema carpocapsae, microsporidie nouvelle parasite de Carpocapsa (Laspeyresia) pomonella. C. R. Soc. Biol., 127 : 1138—1140.

Weiser J. 1961. Die Microsporidien als Parasiten der Insekten. Monograph. zur angew. Entomol.: 1—149.

Weiser J. 1966. Nemoci Hmyzu, Academia, Praha : 1—534.

PLEISTOPHORA CARPOCAPSAE SP. N. (MICROSPORIDIA, NOSEMATIDAE) A PARASITE OF THE CODLING MOTH

P. A. Simchuk and I. V. Issi

SUMMARY

A new species of *Microsporidia*, *Pleistiophora* carpocapsae sp. n., a parasite of caterpillars and pupae of the codling moth, is described from Moldavia. It is noteworthy that one sporant forms pansporoblasts containing from 4 to 64 sporoblasts and then the same number of spores.